

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-202126

(43)Date of publication of application : 22.07.2004

(51)Int.Cl.

A61F 2/28

A61L 27/00

B28B 1/32

B29C 67/00

(21)Application number : 2002-377836

(71)Applicant : NEXT:KK

SINTO BRATOR CO LTD

(22)Date of filing : 26.12.2002

(72)Inventor : SUZUKI SHIGEKI

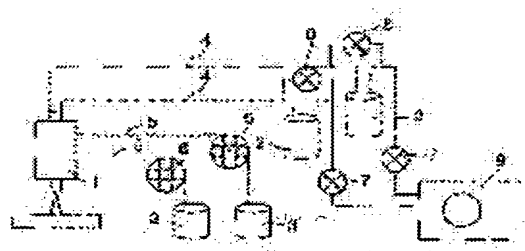
NISHIMURA KAZUTOSHI

## (54) METHOD FOR FORMING ARTIFICIAL BONE

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method for forming an artificial bone or an artificial cartilage which is made of biomaterials, very close to natural bones in appearance and inner structure, highly compatible with a patient who has received the implantation, and capable of promoting bone regeneration.

**SOLUTION:** A powder biomaterial and a liquid biomaterial are sent to near the nozzle tip of a spraying device through separate passages. The mixture of the biomaterials is jetted out of the nozzle to a solid surface. This lamination mixed with the powder biomaterial and the liquid biomaterial is repeatedly made on the attachment surface to form multiple attachment layers, whereby an artificial bone or an artificial cartilage of three-dimensional structure can be formed.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

【書類名】 明細書

【発明の名称】 人工骨成形方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) 生体用粉体材料および液体材料を、噴射装置のノズル先端近傍まで異なる流路によって運ぶ工程；

(b) 前記噴射装置のノズルから、前記生体用粉体材料および液体材料を固体表面に混合噴射し、前記固体表面に前記生体用粉体材料および液体材料の混合物を付着させることにより層を形成させる工程；および

(c) 前記層にさらに前記生体用粉体材料および液体材料を混合噴射して前記混合物の付着面の積層を繰り返すことにより前記層を複数層重層させて骨の三次元構造物を立体形成させる工程、を含む、人工骨または人工軟骨の成形方法。

【請求項2】 さらに、画像診断装置で撮影した画像を処理して骨の三次元形状データを得る工程；および

前記三次元形状データに基づいて、前記複数層の各層の形状を決定する工程、を含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項3】 さらに、前記三次元形状データに基づいて、噴射する前記生体用粉体材料および液体材料の混合比を変化させる工程を含む、請求項2に記載の成形方法。

【請求項4】 請求項3に記載の方法の使用を含む、骨の複合構造の立体成形方法。

【請求項5】 前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、無機生体材料、タンパク質、ムコ多糖、多糖類、生体高分子およびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項6】 前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、リン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、炭酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸マグネシウム、ガラス、コラーゲン、プロテオグリカン、リンク蛋白質、フィブロネクチン、ラミニン、金属イオンおよびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項7】 前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、骨形成促進物質を含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項8】 前記工程(c)の後に、前記三次元構造物表面を骨膜様物質でコーティングする工程をさらに含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項9】 前記工程(c)の後に、前記三次元構造物に電子線を照射する工程をさらに含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項10】 前記工程(c)の後に、前記三次元構造物の表面および内部に微小口径の孔をあける工程をさらに含む、請求項1に記載の成形方法。

【請求項11】 移植対象である宿主の自己組織から採取した細胞を前記生体用粉体材料および液体材料の混合物に添加することを特徴とする、請求項1に記載の人工骨または人工軟骨の成形方法。

【請求項12】 請求項1から11のいずれか1項に記載の成形方法を含む、人工骨または人工軟骨の製造方法。

【請求項13】 請求項12に記載の製造方法により製造される人工骨または人工軟骨。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な人工骨成形方法、該成形方法を含む人工骨製造方法、および該製造方法により製造される人工骨等に関する。

##### 【0002】

#### 【従来の技術】

先天的な、あるいは疾患や事故若しくは骨腫瘍の外科的切除等による後天的な骨の欠損や変形症として、口唇口蓋裂、小耳症、頭蓋縫合早期癒合症、小顎症等が知られている。また骨には、様々な腫瘍が発生することも知られ、悪性骨腫瘍に対しては、切除術、関節離断術、広範切除術などの根治手術が適用され、良性腫瘍に対しても多くの場合、搔爬や切除術が適用されるので骨欠損部が生じる。

##### 【0003】

従来から、上記欠損や変形症に対する治療として、補綴物を充填する方法や、

人工骨を移植する方法、また自家骨を成形して移植する方法などがあった。

また、生体骨の形状を忠実に再現できる精密な加工方法として、チタン等の金属粉末にレーザを照射して溶融・固化させる成形方法や、感光性樹脂の光重合反応を用いる方法などがあるが、それぞれ手術計画用の骨モデルを作成するために用いられていた。

#### 【0004】

##### 【発明が解決しようとする課題】

生体に移植する材料は、生体内にあるがままの形状やサイズを有することが重要であるため、患者のCT画像等に基づいて移植用生体材料を成形する技術が必要不可欠になっている。また、骨には硬組織（骨質）と軟組織（軟骨）があり、生体内ではそれが互いに結びついて複合構造を作っているため、人工骨もこのような構造を有する必要がある。

しかし、補綴物を充填する方法は、ペースト状の人工骨材料を骨の欠損部に塗布し、一定時間をおいて硬化させるものであり、微細な加工や成形をすることができなかった。

また、既成の人工骨はサイズや形状が限定されており、必ずしも患者に適合するものではなく、金属や感光性樹脂を用いる方法は、熱や化学反応に弱い生体材料の加工には適さなかった。

即ち本発明は、上記問題点が解消された、移植可能な人工骨または人工軟骨を成形し製造するための優れた方法を提供することにある。

#### 【0005】

##### 【課題を解決するための手段】

上述の事情に鑑みて、本発明者は鋭意研究を重ねた結果、（a）生体用粉体材料および液体材料を、噴射装置のノズル先端近傍まで異なる流路によって運ぶ工程；

（b）前記噴射装置のノズルから、前記生体用粉体材料および液体材料を固体表面に混合噴射し、前記固体表面に前記生体用粉体材料および液体材料の混合物を付着させることにより層を形成させる工程；および（c）前記層にさらに前記生体用粉体材料および液体材料を混合噴射して前記混合物の付着面の積層を繰り返

すことにより前記層を複数層重層させて骨の三次元構造物を立体形成させる工程

、  
を含む、人工骨または人工軟骨の成形方法が、予想外にも、優れた移植用人工骨または人工軟骨を提供できることを見出し、さらに、人体の断層画像や透過画像をコンピュータ処理して得られた三次元構造データに基づいて前記人工骨・人工軟骨形成方法を用いることにより、特に実際の骨質または軟骨と同じ材料を成分として使用すれば、骨質と軟骨の外形および内部構造が実際の骨質と軟骨に匹敵する人工骨または人工軟骨を製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、（１）（ａ）生体用粉体材料および液体材料を、噴射装置のノズル先端近傍まで異なる流路によって運ぶ工程、（ｂ）前記噴射装置のノズルから、前記生体用粉体材料および液体材料を固体表面に混合噴射し、前記固体表面に前記生体用粉体材料および液体材料の混合物を付着させることにより層を形成させる工程、および（ｃ）前記層にさらに前記生体用粉体材料および液体材料を混合噴射して前記混合物の付着面の積層を繰り返すことにより前記層を複数層重層させて骨の三次元構造物を立体形成させる工程、を含む、人工骨または人工軟骨の成形方法；（２）さらに、画像診断装置で撮影した画像を処理して骨の三次元形状データを得る工程、および前記三次元形状データに基づいて、前記複数層の各層の形状を決定する工程、を含む、前記（１）に記載の成形方法；（３）さらに、前記三次元形状データに基づいて、噴射する前記生体用粉体材料および液体材料の混合比を変化させる工程を含む、前記（２）に記載の成形方法；（４）前記（３）に記載の方法の使用を含む、骨の複合構造の立体成形方法；（５）前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、無機生体材料、タンパク質、ムコ多糖、多糖類、生体高分子およびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも１つを含む、前記（１）に記載の成形方法；前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、リン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、炭酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸マグネシウム、ガラス、コラーゲン、プロテオグリカン、リンク蛋白質、フィブロネクチン、ラミニン、金属イオンおよびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも１つを含む、前記（１）に記載の成形方法；（７）前記生体用粉体材料および液体材料の混合物が、骨形成促進物質

を含む、前記（１）に記載の成形方法；（８）前記工程（ｃ）の後に、前記三次元構造物表面を骨膜様物質でコーティングする工程をさらに含む、前記（１）に記載の成形方法；（９）前記工程（ｃ）の後に、前記三次元構造物に電子線を照射する工程をさらに含む、前記（１）に記載の成形方法；（１０）前記工程（ｃ）の後に、前記三次元構造物の表面および内部に微小口径の孔をあける工程をさらに含む、請求項１に記載の成形方法；（１１）移植対象である宿主の自己組織から採取した細胞を前記生体用粉体材料および液体材料の混合物に添加することを特徴とする、前記（１）に記載の人工骨または人工軟骨の成形方法（１２）前記（１）から（１１）のいずれか１項に記載の成形方法を含む、人工骨または人工軟骨の製造方法；（１３）前記（１２）に記載の製造方法により製造される人工骨または人工軟骨、に関する。

#### 【０００６】

以下に、本願明細書において記載する記号、用語等の意義を説明して、本発明を詳細に説明する。

#### 【０００７】

本願明細書において用いられる骨とは、各種骨を含む意味であり、硬組織としての骨質、軟組織としての軟骨が含まれる。本発明にかかる「人工骨」または「人工軟骨」とは、移植可能な人工骨または人工軟骨を意味する。該人工骨または人工軟骨の移植が可能な宿主は、ヒトを初めとする哺乳動物であり、特に好適な対象はヒトである。

#### 【０００８】

本発明における生体用粉体材料および液体材料の混合噴射とは、該粉体材料および液体材料を別々の流路によって噴射ノズル先端近傍まで運び、固体表面に向けて両者を同時に噴射することを意味し、この結果、該粉体材料および液体材料は均一に混合された状態で固体表面に到達する。生体用粉体材料および液体材料は混合されるとペースト状になり硬化が始まるため、予め混合すると噴射によって微細な成形加工をすることが不可能となるが、本発明の混合噴射によれば、該粉体材料および液体材料が混合されるのは噴射直前または直後となるため、硬化による不都合が生じない。

## 【0009】

本発明にかかる成形方法において、粉体材料および液体材料がそれぞれ複数の物質を含む場合であって、予め混合すると流動性が損なわれて噴射に適さない状態になる恐れがある場合は、粉体流路および液体流路をそれぞれ複数にし、噴射の直前または直後までそれらの物質が接触しないようにしてもよい。

s また本発明にかかる成形方法においては、複数の流路が1つのノズルに接続される構成とすることもできるし、それぞれの流路に別のノズルを接続して各ノズルの先端が近接した構成とすることもできる。1つのノズルとする場合、例えば、ノズル内部を同心円状の層構造にしたり、それぞれの流路を束状にしたりすることができる。

本発明にかかる方法における前記粉体材料および液体材料は、それぞれのノズルの構造に応じて、噴射されて微小粒子状になってから混合されてもよいし、噴射直前に混合されてもよい。

## 【0010】

本発明にかかる成形方法は、上述のように生体用粉体材料および液体材料を固体表面に向けて混合噴射し、前記固体表面に均一な混合物として付着させることにより層を形成させる工程と、この層にさらに前記粉体材料および液体材料を混合噴射して前記混合物の付着面の積層を繰り返すことにより、前記層を複数層積み重ねて骨の三次元構造を立体形成する工程とを含む。固体表面は、例えば既に成形された人工骨であってもよいし、全く素材の異なるものを担体として用いてもよく、成形後該担体が不要な場合は、表面に積層された混合物が硬化したあと除去することができる。除去する場合には、例えば弱い加熱で溶けてしまうようなゼラチンゲルなどの材料で担体を形成しておくことが好ましい。

## 【0011】

本発明にかかる成形方法においては、噴射ノズルを三次元移動させるか、あるいは前記固体表面を多軸駆動のターンテーブルに載置して三次元移動させるなどの方法により、前記付着層を所望の部分に積層し、骨の三次元構造を立体形成させる。噴射ノズルやターンテーブルの移動は、コンピュータで操作するCAM (Computer Assisted Manufacturing) システムを用いることもできるし、手動で



行うこともできる。また、実際の骨の精密な内部構造形状を再現するために、噴射スポットの直径は好ましくは $2-30\mu\text{m}$ 、さらに好ましくは $10\mu\text{m}$ とする。

### 【0012】

また本発明にかかる成形方法に用いる画像診断装置とは、例えば、X線装置、X線CT装置、磁気共鳴画像診断装置、診断用核医学装置、超音波画像診断装置などであり、移植対象宿主の内部構造を画像として得られるものであればよい。

画像診断装置によって得られた二次元画像は、通常の方法、例えばVR (volume rendering) 法、MIP (maximum intensity projection) 法、MinP (minimum intensity projection) 法、SSD (shaded surface display) 法 (周藤安造「医学における三次元画像処理」コロナ社など参照) といった方法により三次元形状データに再構成することができる。尚、三次元形状データへの再構成に際しては、上述の画像診断装置のうち1種類によって撮影された二次元画像を使用してもよいし、2種類以上の装置によって撮影された画像を組み合わせ使用してもよい。

本発明にかかる成形方法に用いる三次元形状データは、CAD (computer assisted design) データとして得ることが好ましい。CADデータとして得られれば、CAMシステムを使用して、上述のノズルやターンテーブルの移動をすべて自動で制御することが可能となる。

また本発明の成形方法にかかる三次元形状データは、先天性な欠損症や手術で切除された場合など人工骨を移植しようとする部位の骨の画像が得られない場合、半体側の半身の前記CADデータを左右反転させることによって得ることが可能である。

さらに、人種、年齢、身長、性別を階層化して前記CADデータのデータベースを構築し、そのデータベースを基に対象患者の欠損部の仮想的な三次元形状データを得ることが可能であり、このような三次元形状データも本発明の三次元形状データに含まれる。この場合、さらに線形構造最適化手法を用いて適切な制約条件をつけることにより、仮想的に欠損部の最適構造を見出すことが可能である。

尚、CT画像を三次元形状データに変換する担当者、人工骨成形の担当者および移植手術を行う医師のグループウェアが必要であり、PDM (product data management) の概念を導入する必要がある。

### 【0013】

本発明にかかる成形方法において「粉体材料および液体材料の混合比の変化」とは、粉体材料対液体材料の混合比の変化のほか、複数種類の粉体を含む粉体材料の組成の変化や、複数種類の物質を含む液体材料の組成の変化も含む。

実際の骨は、部位によって組成が異なり、例えば硬組織である骨組織はヒドロキシアパタイト、コンドロイチン硫酸およびタイプIコラーゲンなどからなり、軟組織である軟骨組織は、プロテオグリカンや糖蛋白質、タイプIIコラーゲンなどからなる。従って、前記三次元形状データから骨の種類を判断し、その種類によって噴射する液体および粉体の成分を変化させることにより、より実際の骨に近い人工骨および人工軟骨を得ることができる。本発明によれば、噴射する前記生体用粉体材料および液体材料の混合比を変化させることにより、このような人工骨および人工軟骨を得ることが可能である。

本発明にかかる成形方法において前記粉体材料および液体材料の混合比の変化は、例えばノズルに接続される各流路からの流出量や、ノズルからの噴射量を調節することによって生じさせることができる。好ましくは、複数の粉体および液体の保存容器と保存容器の数に応じた流路を、それぞれの流路からの流出量を調節することが可能なノズルに接続しておき、前記粉体材料および液体材料の混合比を自由に変化させる。

さらに好ましくは、前記粉体材料および液体材料の混合比を緩慢にも急峻にも切り替えることが可能なノズルに接続しておく。これにより、ある線を境に成分が異なるように噴射することも、変化に勾配を持たせて徐々に組成が移行するように噴射することも可能となる。

### 【0014】

本発明にかかる成形方法に用いる生体用粉体材料および液体材料は、生体に移植可能で、粉体または液体のいずれかの態様で噴射できるものであればどんな物質を含んでいてもよく、従来の人工骨材料を用いることも可能である。

## 【0015】

好ましくは、前記生体用粉体材料および液体材料の混合物は、リン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、炭酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸マグネシウム、ガラス、コラーゲン、プロテオグリカン、リンク蛋白質、フィブロネクチン、ラミニンおよびそれらの塩からなる群から選択される少なくとも1つを含み、前記リン酸カルシウムとしては、例えば、 $\alpha$ 型リン酸三カルシウム、 $\beta$ 型リン酸三カルシウム、リン酸四カルシウム、リン酸八カルシウム、オルトリン酸カルシウム、非晶質リン酸カルシウム、リン酸カルシウムガラスなどを使用することができる。また前記コラーゲンは、タイプI、タイプIIなどのほか、アテロコラーゲンであってもよく、プロテオグリカンとしては、コンドロイチン、アグリカン、ヒアルロン酸やそれらの塩などがあげられる。前記塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩などが好ましいが、生理学的に許容されうる塩である限りこれらに限定されない。

尚、これらの物質の中には、コラーゲンのように粉体にも、溶液にもできるものが含まれ、実施の形態に応じて使用しやすい形態が選択される。

## 【0016】

本発明にかかる成形方法では、上述のように噴射成形する部位の実際の骨の種類によって、例えば骨質組織であるか軟骨組織であるかによって、噴射する粉体材料および液体材料を変化させることが可能であり、硬組織である骨質組織に対応する部分であれば、前記生体用粉体材料および液体材料は、リン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイト、プロテオグリカン、タイプIコラーゲンからなる群から選択される1種以上の物質を含むことが好ましい。例えば、ヒドロキシアパタイトとリン酸カルシウムを微細粉末として、タイプIコラーゲンとプロテオグリカンの溶液と混合噴射すると、コラーゲンマトリックス中にヒドロキシアパタイトの結晶が析出して硬化し、骨質として必要な強度を有する人工骨が得られる。

## 【0017】

軟骨組織に対応する部分であれば、前記粉体材料および液体材料は、プロテオグリカン等の糖蛋白質、タイプIIコラーゲン、リンク蛋白質からなる群から選択される1つ以上の物質を含むことが好ましい。例えば、コンドロイチンとアグリ

カンの微細粉末とし、ヒアルロン酸、タイプIIコラーゲン、リンク蛋白質の溶液と混合噴射すると、軟骨組織に必要な柔軟性を有する人工軟骨が形成される。

#### 【0018】

本発明にかかる成形方法により立体形成される骨の複合構造は、骨質組織および軟骨組織に加え、細胞外マトリックスや結合組織も含む。例えば、本発明に用いる噴射装置を使用して、コラーゲン、プロテオグリカン、フィブロネクチン、ラミニンなどの混合物を噴射すれば、細胞外マトリックス部分を容易に形成することができるので、噴射する粉体材料および液体材料を切り替えれば、骨質や軟骨とともに細胞外マトリックスや結合組織も含む複合構造を一体として成形することができる。さらに、粉体および液体材料を適宜選択してそれらの混合比を上述のように変化させれば、緻密質や海綿質など部位によって異なる成分や密度を再現することも可能となり、非常に生体骨に近い構造が得られるので実際の骨細胞への置換が早くなり適合性も良くなると考えられる。

#### 【0019】

本発明にかかる成形方法に用いる骨形成促進物質は、骨の再生や成長を促進する物質、即ち骨誘導能のある物質であればいずれも使用することが可能であり、例えば、骨形成因子（BMP-2）、トランスフォーミング増殖因子（TGF- $\beta$ ）、繊維芽細胞増殖因子（FGF）、インシュリン様成長因子（IGF）、血小板由来増殖因子（PDGF）、形質転換増殖因子等の因子のほか、副甲状腺ホルモン、カルシトニン、活性型ビタミンD、ビタミンA、アンドロゲン、エストロゲン等のホルモンなどから選択することができる。好ましくは、TGF- $\beta$ やPDGF等複数の増殖因子を含む多血小板血漿（PRP）を用いる。患者自身の血液から容易に調製することが可能で、移植により拒絶反応が生じる恐れもない。

本発明にかかる成形方法においては、これらの骨形成促進物質を液相に溶解または分散させて噴射することも可能であるし、凍結乾燥状態で粉碎するなどして粉体として噴射することも可能である。

#### 【0020】

尚、本発明にかかる成形方法に用いる生体用粉体材料および液体材料には、硬

化促進剤や架橋剤を加えることもできる。例えばコラーゲンを架橋剤と共に噴射すれば強度の調節をしたり、架橋密度を制御して多孔体構造を作成したりすることが可能となり、硬化促進剤の量を変化させることで硬化までの時間を調節することが可能である。

#### 【0021】

本発明にかかる成形方法における骨膜様物質とは、骨膜としての機能を果たす物質であればいずれの物質であってもよく、例えばコラーゲンを用いる。

本発明にかかる成形方法では、骨の三次元構造物を立体形成させる工程の後、該三次元構造物表面にコラーゲン、好ましくはタイプIIコラーゲンの被膜を形成する。被膜は、本発明の混合噴射に用いる噴射装置を用いてコラーゲン等を前記三次元構造物表面に噴射して形成することが可能であり、その他の噴射装置によって吹き付けたり、塗布したりして形成することも可能である。このように骨膜様物質で前記三次元構造物をコーティングすることにより、実際の骨膜と同様の機能、例えば骨の新生、再生や修復といった機能が得られ、早期の骨膜再生が実現される。

#### 【0022】

本発明にかかる成形方法における電子線の照射は、人工骨または人工軟骨内部に、移植に適した強度分布と吸収置換特性分布を持たせるために行われる。各種ポリマーの性能向上のために電子線を照射して改質することが一般的になっているが、本発明の生体用粉体材料および液体材料にもコラーゲンをはじめとするバイオポリマーが含まれているので、電子線を照射することにより架橋結合が促進される。

好ましくは該三次元構造物の表面から電子線を照射して、該三次元構造物の内部に到達する電子線の密度が十分に低くなるようにする。それにより、該三次元構造物の表面は強く架橋結合して高い強度を持ち生体への吸収置換の速度が遅くなる一方、該三次元構造物の内部は架橋反応が少ないのでより強度が低くなり、生体への吸収置換も速くなる。このような構成とすることによって、実際の骨組織により近い構造、即ち、内部は海綿骨で柔らかく骨癒合に6週間程度しかかからず、表面は皮質骨で固く骨癒合に9－18週間程度かかる構造の人工骨および

人工軟骨を形成することが可能となる。

また、電子線を照射すれば滅菌効果も得られ好ましい。

#### 【0023】

本発明にかかる成形方法において前記三次元構造物の表面および内部の微小口径の孔は、例えばレーザーの照射や、微小ドリルにより設けられる。このような構造とすることで、モザイク上の組織の集合体である生体骨の表面と同様に、外部の体液が容易に浸潤できるようになる。また、前記微小口径の孔は、生体骨における血管や神経の通るハバース管やフォルクマン管等の細孔の役割を果たすと同時に、破骨細胞や骨芽細胞の浸潤を可能とし、骨の新生や新生骨への置換に望ましい環境を作る。

#### 【0024】

本発明にかかる成形方法において、生体用粉体材料および液体材料に含ませる移植対象である宿主の自己組織から採取した細胞としては、例えば、間葉細胞、破骨細胞、破軟骨細胞、骨芽細胞、骨細胞、軟骨細胞など骨形成に関わる細胞が挙げられる。

移植対象がヒトである場合は、好ましくは、その患者自身から採取した骨髄細胞をBMPなどの骨形成促進因子とともにコラーゲンを含む培地で培養し増殖させ、培地と同等のコラーゲン溶液に分散させて、前記混合噴射に用いる。

あるいは、噴射せず、他の生体用粉体材料および液体材料の混合噴射と同時に、マイクロスポッターで培養した細胞を滴下して人工骨または人工軟骨中に埋入することも可能である。骨形成に関わる細胞を埋入することにより、骨再生を促進することが可能となる。

#### 【0025】

本発明にかかる人工骨および人工軟骨の製造方法は、本発明にかかる成形方法を少なくとも1つ含んでいる限り、上述の成形方法に含まれない工程を含む方法であってもよい。

#### 【0026】

また、本発明は、かかる製造方法により製造される人工骨および人工軟骨も含む。本発明にかかる人工骨および人工軟骨は、本発明にかかる成形方法により成

形されるので、硬骨組織や軟骨組織が一体として形成されており、緻密質や海綿質、血管や神経が通る細孔、部位によって異なる強度分布や吸収置換特性分布といった内部構造も、従来の人工骨や人工軟骨と比較して、生体骨により近い構造が再現されている。さらに、本発明による製造方法は加熱や化学反応による成形を必要としないため、本発明にかかる人工骨および人工軟骨は生体材料を用いて製造され、かつ精密な成形加工がなされている。

## 【0027】

### 【発明の実施の形態】

以下に示す本発明の実施例および試験例は例示的なものであり、本発明は以下の具体例に制限されるものではない。当業者は、以下に示す実施例に様々な変更を加えて本発明を最大限に実施することができ、かかる変更は本願特許請求の範囲に包含される。

## 【0028】

### [実施例1]

図1に、本発明の実施に用いる混合噴射装置システムの一例を示す。液体流路および粉体流路はそれぞれ2系列ずつ表示しているが、それぞれ1系列とすることも、必要に応じて3系列以上することも可能であり、液体流路の数と粉体流路の数が異なってもよい。生体用粉体材料は、ガス圧縮装置9から送られるガスにより粉体ガス流動化槽2内で流動化され、粉体流路4を通してノズル1まで運ばれる。ガス中の粉体濃度については、本調節弁7とバイパス調節弁8の近くにガス流量センサを設け、このセンサからの信号に基づいて、ガスの流量は本調節弁7によって、粉体量はバイパス調節弁8によって調節する。また、粉体ガス流動化槽2に、一般に知られる回転振動型粉体フィーダー構造を取り入れることによっても粉体濃度を調節することもできる。ガス流量センサには、例えば光透過型あるいは光散乱型センサを用いて、粉体濃度を検出する。

生体用液体材料は、液体材料用容器3から定量ポンプ6によって液体流路5に送られ、ノズル1まで運ばれる。ポンプ6に装着されたロータリーエンコーダーからの信号により回転数を制御するか、ポンプ6に着けられたモーター自体をパルスモーターとしてパルスジェネレーターにより回転数を制御することによって

、溶液の流量を制御する。多系列の場合も、同様の方法により、各流路からの溶液の混合割合を容易に制御する。

センサからの情報に基づく粉体および液体の流量は総合的にコンピュータで制御され、噴射成分を短時間で変化させ、常に生体粉体材料および液体の混合比を最適な状態とする。

### 【0029】

#### [実施例2]

図2に本発明の実施に用いるノズルの一例の断面図を示す。ノズルは同心円状の二重構造となっており、内側の管21から粉体材料が、外側の管4から液体材料が、それぞれ矢印の方向に沿って噴射される。

内側の管21に2系列の粉体流路22および23が、外側の管24に2系列の液体流路25および26が接続された例を示すが、流路はそれぞれ1系列としてもよいし、3系列以上であってもよい。ノズル先端近傍まで個別の流路で運ばれた材料は、ノズル先端から同時に混合噴射され、空中で均一に混合され、固体表面28に付着層27を形成する。

### 【0030】

#### [実施例3] 基礎実験

5cm×4cm×3cmの長方体ブロックのCADデータに基づき、粉体材料として石膏を、液体材料として蒸留水を用いて、混合噴射を行った。噴射時の石膏と蒸留水の重量比は10対4とし、噴射速度は1分間に500mgと設定した。その結果、約2時間で直方体が成形され、それから1時間で完全に硬化した。寸法の誤差は1%以内であった。

### 【0031】

#### [実施例4] 口唇口蓋裂の欠損組織の成形

皮質骨部分ではバイオペックス（三菱マテリアル株式会社）を粉体材料、タイプIコラーゲン（高研）の0.2%水溶液を液体材料とし、軟骨部分ではコンドロイチンとアグリカンの微細粉末を粉体材料、ヒアルロン酸、タイプIIコラーゲンおよびリンク蛋白質を凝集しやすいPHに調整したものを液体材料として混合噴射した。



皮質骨部分と軟骨部分の接続面が、噴射の走査線に対して垂直になるようにし、連続的に噴射成分を切り替えて、中心部が硬組織で周囲が軟組織となった半径40mmの半球状構造物を成形した。

操作を開始後、約2時間30分で成形が終了し、構造物の骨側は象牙色で成形終了時には硬化していた。軟骨部は半透明の硬いゲル状であり、硬化を継続させる為にさらに3時間、人工体液に浸漬させた。

#### 【0032】

##### 【実施例5】 PRPの埋入

ウサギ血液50mlよりPRPを10ml調製し、PRPを液体材料とし、バイオペックス（三菱マテリアル株式会社）を粉体成分として、直径7mm、高さ14mmの円柱状構造物を混合噴射により成形した。

硬度の再現性を見るため成型物が噴射走査線に並ぶ様に配置した。

人工体液に2時間浸漬させた後にその圧縮強度を測定した。人工骨として十分実用に耐える圧縮強度であり、変動も小さかった。

#### 【0033】

【表1】

テストピースNo.	1	2	3	4	5	6
硬度 (メガパスカル)	46.2	41.7	39.5	44.9	43.4	45.8

#### 【0034】

##### 【実施例6】 体外で培養増殖させた再生骨の混入

市販されているラット頭蓋骨由来の骨芽細胞培養キットにトリプシン処理を行い、継代培養を行った後、その培養細胞を培地溶液と共にマイクロシリンジに充填し、マイクロスポッターに取り付けた。

バイオペックスを粉体材料とし、タイプIコラーゲンの0.2%溶液を液体材料として混合噴射し、3 $\mu$ lの窪みが1cm<sup>3</sup>あたり30個できる様に装置をプログラムし、噴射装置と連動させながら、この窪みに培養細胞と培地の混合液をマイクロスポッターで滴下して人工骨中にPRPを封入した。

得られた人工骨を人工体液につけて硬化させた後に、成型物を研磨して30倍

の実体顕微鏡にて観察したところ各窪みの中に培養骨が封入されているのが確認された。さらに、アルカリホスファターゼ染色により各窪みが赤く変色し、窪み中に骨細胞が存在することが確認された。

### 【0035】

#### 【発明の効果】

本発明により、患者のCT画像等に基づき、移植用生体材料を用いて、生体内における形状、サイズ、内部構造等を有する人工骨および人工軟骨を成形することができた。また、骨の複合構造を一体として成形することができた。本発明にかかる成形方法においては、骨の新生、再生、修復等を促進させる物質の添加を容易に行うことができ、生体適合性の良い人工骨を提供することができた。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

図1は、本発明の実施に用いる混合噴射装置システムの一例を示す。

##### 【図2】

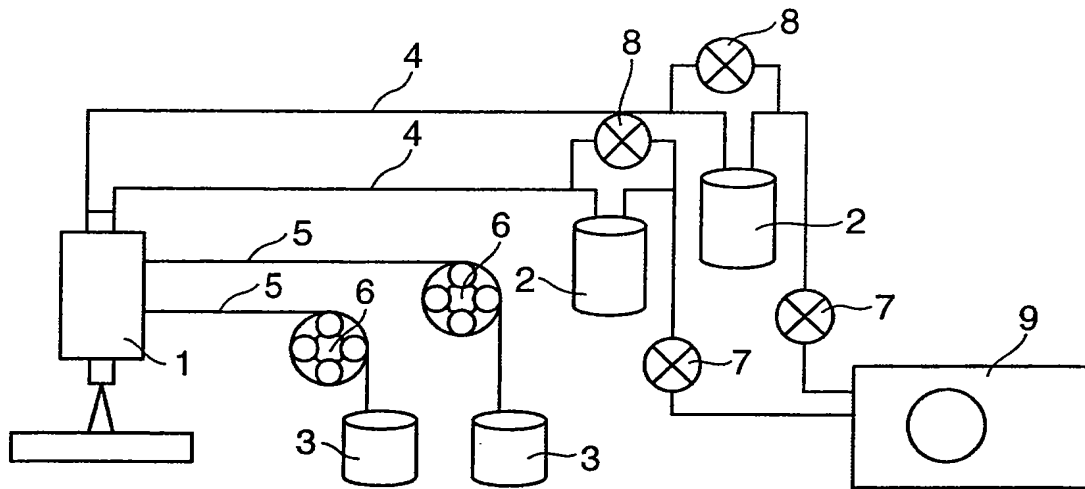
図2は、本発明の混合噴射に用いるノズルの一例の断面図を示す

#### 【符号の説明】

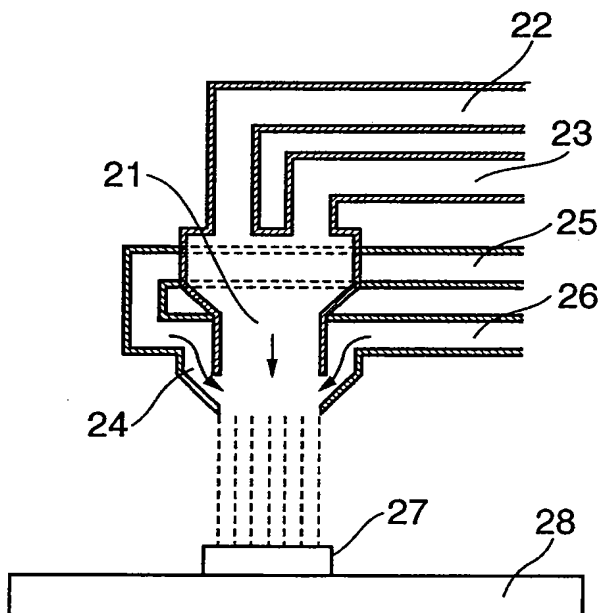
- 1 ノズル
- 2 粉体ガス流動化槽
- 3 液体材料用容器
- 4 粉体流路
- 5 液体流路
- 22、23 液体流路
- 25、26 粉体流路
- 27 付着層

【書類名】 図面

【図1】



【図2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体材料で作られ、外形および内部構造が生体骨に非常に近く、移植対象患者に適合性がよく骨再生を促進する人工骨および人工軟骨の成形方法を提供する。

【解決手段】 生体用粉体材料および液体材料を、噴射装置のノズル先端近傍まで異なる流路によって運び、このノズルから固体表面に混合噴射し、生体用粉体材料および液体材料の混合物の付着面の積層を繰り返すことによって付着層を複数層重層させ、骨の三次元構造物を立体形成させる人工骨または人工軟骨の成形方法を開発した。

【選択図】 図1